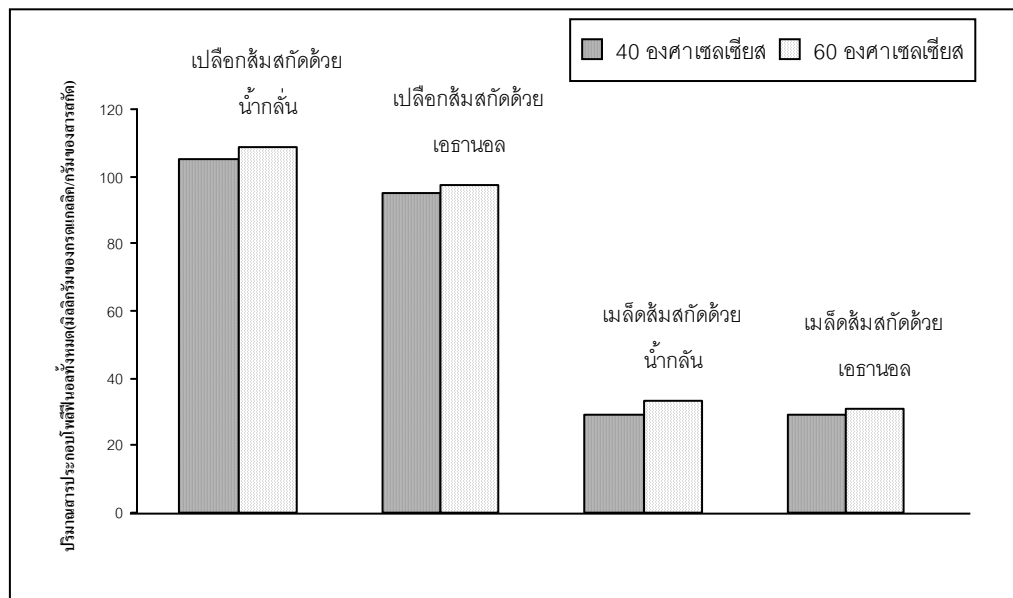


บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดด 6 ชั่วโมง แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและเอธานอล 95 % ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส

สำหรับตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมงจะมีความชื้นประมาณ 15 - 20 % และเมื่อนำตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานดังกล่าวมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่า การอบตัวอย่างจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % จะต้องใช้เวลาในการอบแห้งประมาณ 48 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลการทดลองในภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานทุกตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดใกล้เคียงกัน ไม่ว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจะเป็นน้ำกลั่นหรือเอธานอล 95 % ก็ตาม โดยที่สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสมีปริมาณ

สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานในระดับที่ศึกษาไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้ ดังนั้น สภาวะที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งสำหรับการใช้ในการทดลองต่อไปคืออบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 15-20 %) ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.1 เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกส้มเขียวหวานจะมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดที่ได้จากเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดในหัวข้อต่อไป

4.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

จากการทดลองเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ซึ่งการสกัดใช้วิธีการรีฟลักซ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างกัน 7 ชนิดคือน้ำกลั่น, เอทานอล, เมทานอล, อะซิโตน, อะซิโตรโนไทรท์, คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซิเตต (โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกหรือเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วต่อตัวทำละลายอินทรีย์เท่ากับ 1:10) ซึ่งน้ำหนักสารที่สกัดได้หลังจากระเหยตัวทำละลายออก ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

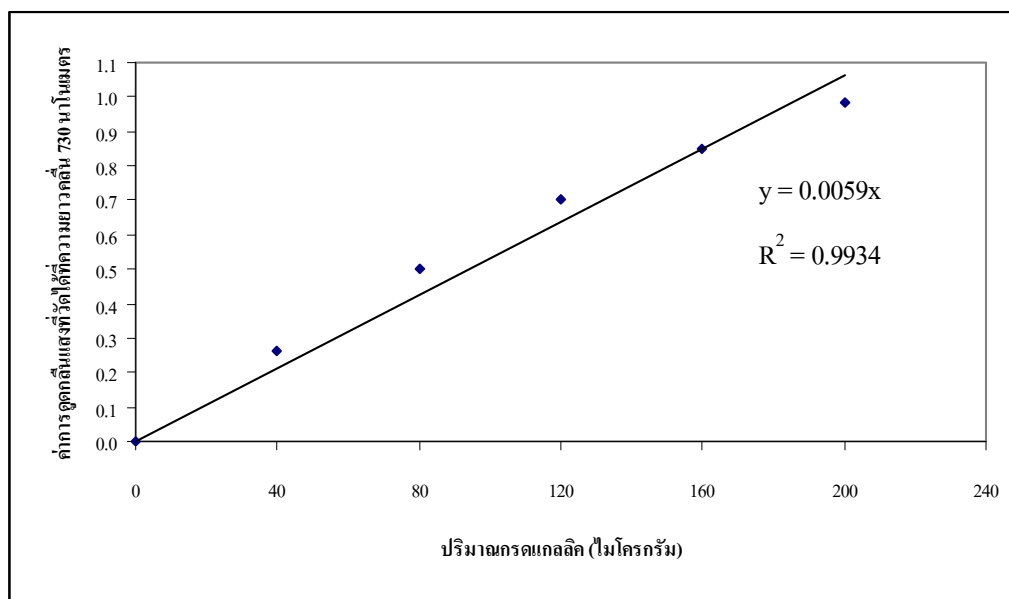
ตัวทำละลายอินทรีย์	ปริมาณสารสกัดที่ได้(กรัม / ตัวอย่าง 15 กรัม)		ผลผลิตของสารสกัดที่ได้ (ร้อยละ)	
	เปลือกส้มเขียวหวาน	เมล็ดส้มเขียวหวาน	เปลือกส้มเขียวหวาน	เมล็ดส้มเขียวหวาน
น้ำกลั่น	3.02	3.20	20.11	21.33
เมทานอล	3.02	2.62	20.11	17.44
เอทานอล	2.63	2.82	17.54	18.81
อะซิโตรโนไทรท์	0.89	0.90	5.92	6.01
อะซิโตน	0.49	0.50	3.28	3.32
เอทิล อะซิเตต	0.56	0.58	3.70	3.86
คลอโรฟอร์ม	0.39	0.40	2.61	2.63

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เท่ากัน แต่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดต่างกัน จะได้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้ น้ำกลั่นสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้มากที่สุด ในขณะที่คลอโรฟอร์มสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดมีสมบัติเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ต่างกัน และผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะมีแนวโน้มในการสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้ในปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย

ในการสกัดสารจากพืชส่วนใหญ่จะนิยมใช้เอทานอลหรือส่วนผสมของเอทานอลและน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 80 ในการสกัด เนื่องจากสามารถละลายได้ทั้งสารมีขั้วและไม่มีขั้ว แม้ว่าจะไม่ใช่ตัวทำละลายที่ดีที่สุด แต่ก็สกัดสารได้มากกลุ่ม และปริมาณมากพอที่ใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้น นอกจากนี้ ยังมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ในการสกัดโดยเรียงจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปหาน้อยได้แก่ น้ำ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต คลอโรฟอร์ม เบนซีน ปิโตรเลียมอีเทอร์ (รัตนา, 2545) นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกัน องค์ประกอบของสารที่สกัดได้ก็จะแตกต่างกันไปด้วย โดยทั่วไปสารประกอบที่มีสมบัติเป็นสารที่มีขั้วน้อยก็จะถูกสกัดออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย อย่างไรก็ตามปริมาณของสารที่สกัดได้อาจไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน กล่าวคือ สารที่สกัดได้ในปริมาณน้อยอาจแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงก็ได้ ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกันเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารที่สกัดได้และเปรียบเทียบสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดดังกล่าวซึ่งจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป

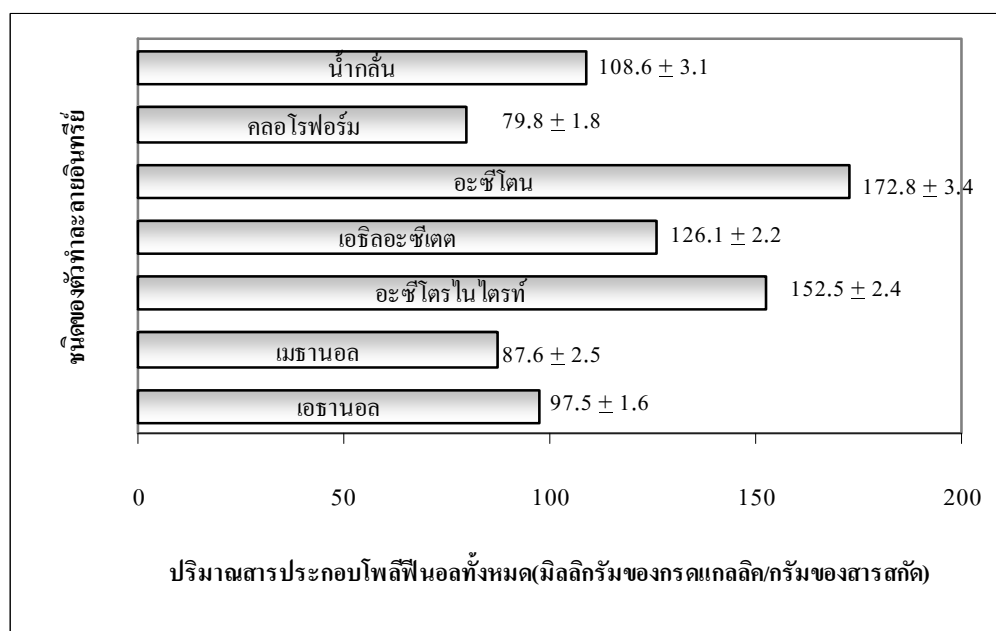
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

จากการเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กราฟมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรงและมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0059X$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9934$ ดังแสดงในภาพที่ 4.2

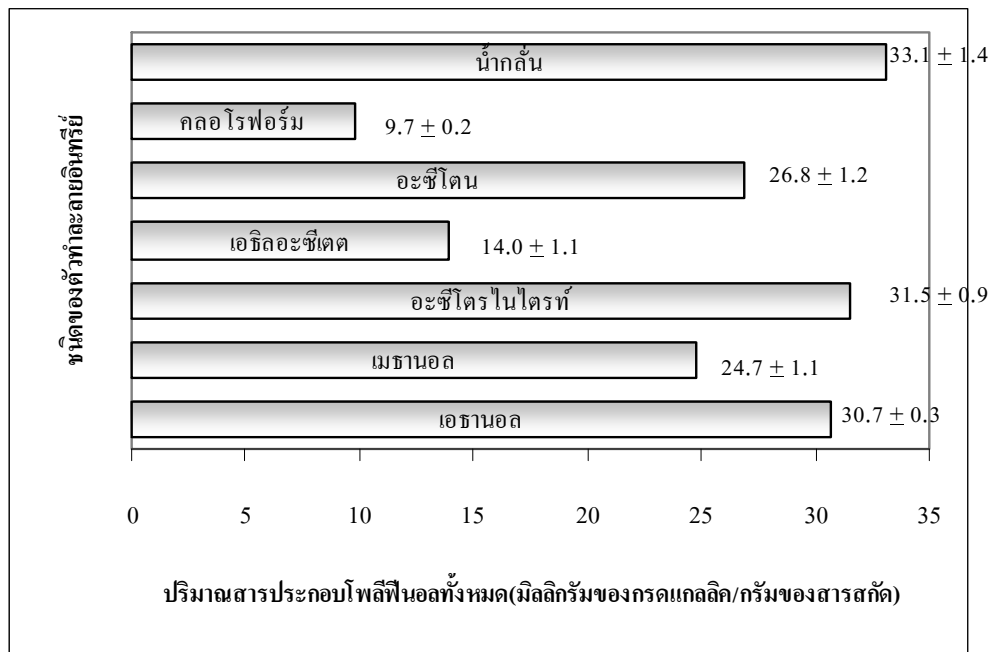


ภาพที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.3 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

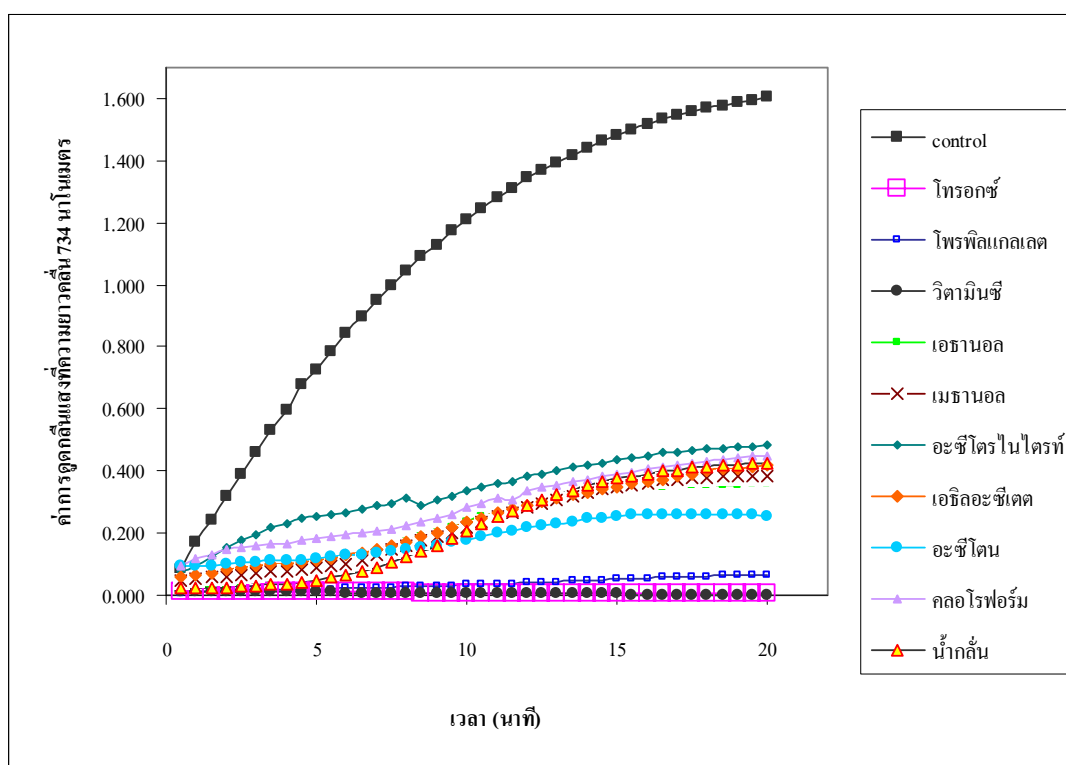
จากภาพที่ 4.3 และ 4.4 จะเห็นได้ว่าเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่างกัน โดยสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตนมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ 172.8 ± 3.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอธิลอะซิเตต น้ำกลั่น เอทานอล เมธานอล และคลอโรฟอร์ม โดยมีปริมาณเท่ากับ 152.4 ± 2.4 126.1 ± 2.2 108.5 ± 3.1 97.4 ± 1.7 87.5 ± 2.5 และ 79.8 ± 1.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 33.1 ± 1.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอทานอล อะซิโตน เมธานอล เอธิลอะซิเตต และคลอโรฟอร์ม โดยมีปริมาณ เท่ากับ 31.5 ± 0.9 30.6 ± 0.3 26.8 ± 1.3 24.7 ± 1.1 13.9 ± 1.1 และ 9.7 ± 0.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และจากการจัดเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยเรียงจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปหาน้อยได้ดังนี้คือ น้ำ เมธานอล เอทานอล อะซิโตน อะซิโตรไนไตรท์เอธิลอะซิเตตและ คลอโรฟอร์ม ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Jeong และคณะ

(2004) ที่ใช้เอธานอลความเข้มข้น 70 % และน้ำกลั่นสกัดเปลือกส้ม (*Citrus unshiu*) ซึ่งพบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นในการสกัด มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้น 70 % และในการทดลองนี้ได้มี การใช้ น้ำกลั่นและเอธานอลในการสกัดเปลือกส้มเขียวหวานซึ่งก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และจากการ ทดลองพบว่าในสารสกัด 1 กรัม สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ Gorinstein และคณะ (2001) ที่พบว่าในเปลือกของพืชตระกูลส้มซึ่งได้แก่ มะนาว ส้มเขียวหวาน และเกรฟฟรุต มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณเส้นใยสูงกว่าผลที่ปอกเปลือกแล้วและในมะนาวมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ ส้มเขียวหวานและเกรฟฟรุตตามลำดับ และจากการทดลองของ Nitao และคณะ (2001) ซึ่งได้ทำ การทดลองหาปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินในพืชและตัวอย่างอาหารซึ่งในขั้นตอนของการสกัด ได้ใช้เมธานอลความเข้มข้น 50 % และอะซีโตนความเข้มข้น 70% ผลการทดลองพบว่า การสกัด ไบโอมเมิลด้วยเมธานอล 50 % ให้ปริมาณของโปรแอนโทไซยานิดินสูงกว่าการใช้อะซีโตน 70% นอกจากนี้ Jayaprakasha และคณะ (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในเมล็ดองุ่น ซึ่งในขั้นตอนของการสกัด ได้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น อะซีโตน เอธิลอะซีเตต เมธานอลและตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของเอธิลอะซีเตตและน้ำกลั่น จากการทดลองพบว่า ผลผลิตของสารที่สกัดได้จากเมธานอลมีปริมาณสูงสุด รองลงมาคือ อะซีโตน เอธิลอะซีเตต และตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของเอธิลอะซีเตตและน้ำกลั่น ตามลำดับโดยคำนวณในรูปของร้อยละของน้ำหนักแห้ง

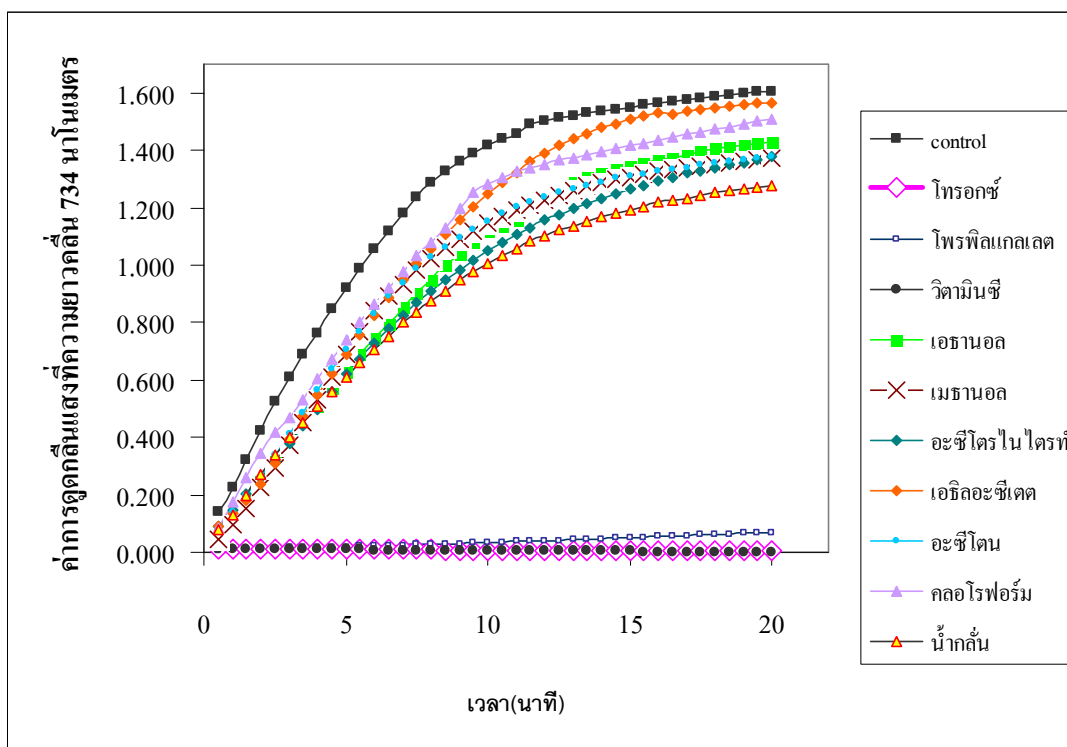
4.4 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

4.4.1 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+}

จากการทดลองการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยา ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร อ่านผลทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำข้อมูลผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.5 และภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

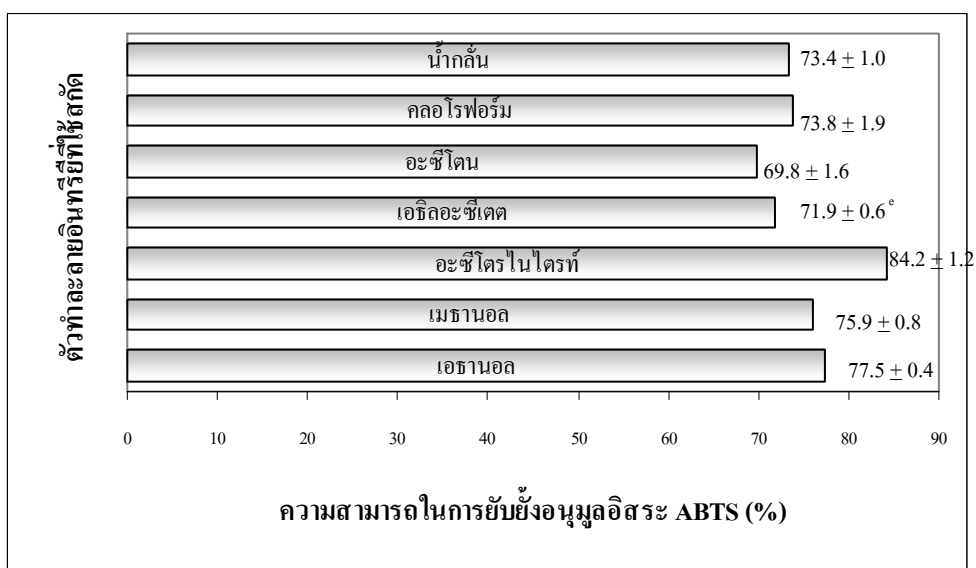


ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

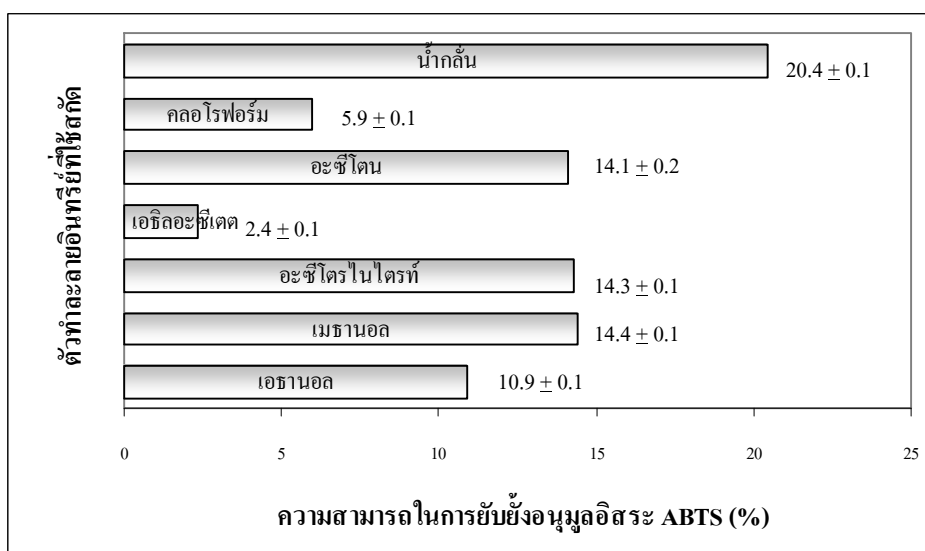
เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ที่เวลา 20 นาที เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS}^{\bullet+} = 100 \times \left[1 - \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง})}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ ปฏิกิริยาควบคุม})} \right]$$

ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 4.7 และ ภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.7 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี ABTS^{•+} ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 4.8 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี ABTS^{•+} ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

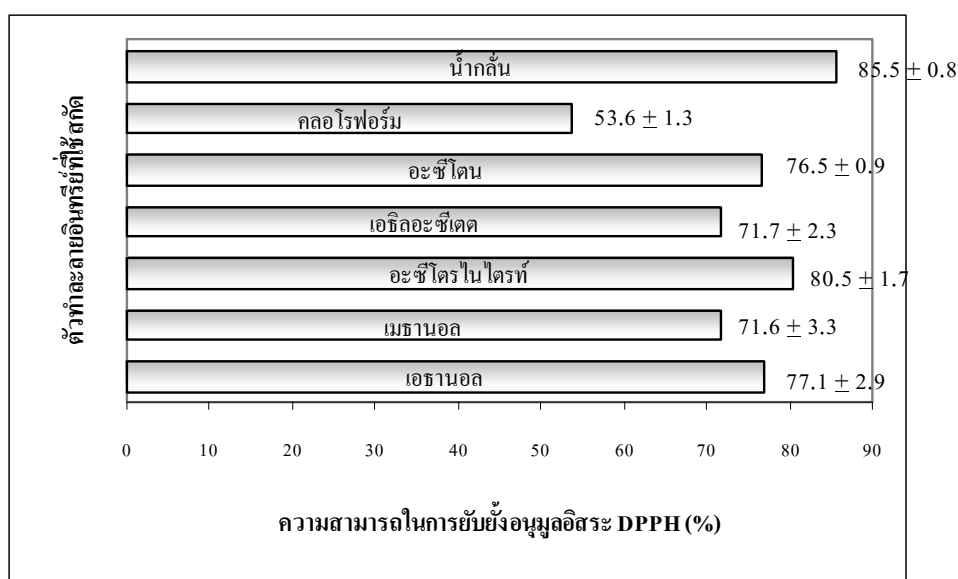
จากภาพที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS^{•+} ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและคลอโรฟอร์ม โดยที่สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล เมธานอล คลอโรฟอร์ม น้ำกลั่น เอธิลอะซิเตต และ อะซิโตน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} เท่ากับ 84.2 ± 1.2 77.5 ± 0.5 75.9 ± 0.8 73.8 ± 1.9 73.4 ± 1.0 71.9 ± 0.6 และ 69.8 ± 1.6 ตามลำดับ และจากภาพที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน จะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS^{•+} ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซิโตรไนไตรท์ และอะซิโตน และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซิโตรไนไตรท์ อะซิโตน เอธานอล คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซิเตต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} เท่ากับ 20.4 ± 0.1 14.4 ± 0.1 14.3 ± 0.1 14.1 ± 0.2 10.9 ± 0.1 5.9 ± 0.1 และ 2.4 ± 0.1 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมาก จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ส่วนสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานนั้นแสดงแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS^{•+} เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและเมธานอล กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและน้ำกลั่น และกลุ่มที่ 4 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตตและอะซิโตน ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซิโตรไนไตรท์และอะซิโตน กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเอธิลอะซิเตต

4.4.2 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ด ส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH

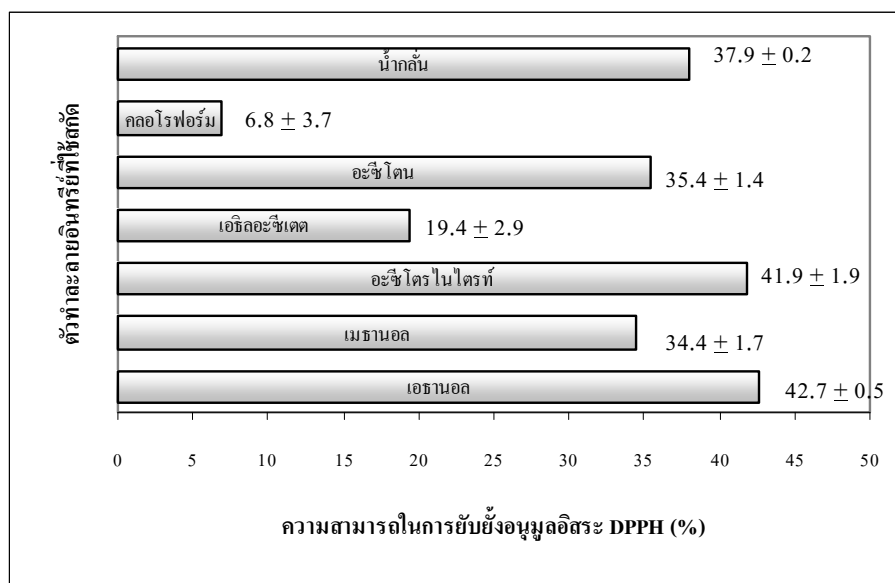
จากการทดลองตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตร ดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH} = 100 \times \left[1 - \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง})}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ ปฏิกริยาควบคุม})} \right]$$

ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 4.9 และ ภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.9 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 4.10 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จากภาพที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตตและเมทานอล โดยที่สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์เอทานอล อะซีโตน เอธิลอะซิเตต เมทานอลและคลอโรฟอร์มโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 85.5 ± 0.8 80.5 ± 1.7 77.1 ± 2.9 76.5 ± 0.9 71.1 ± 2.3 71.6 ± 3.3 และ 53.6 ± 1.3 ตามลำดับ จากภาพที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตรวจวัดโดยวิธี DPPH ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและอะซีโตรไนไตรท์ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและอะซีโตน โดยที่สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น อะซีโตน เมทานอล เอธิลอะซิเตตและคลอโรฟอร์ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 42.7 ± 0.5 41.9 ± 1.9 37.9 ± 0.2 35.4 ± 1.4 34.4 ± 1.7 19.4 ± 2.9 และ 6.8 ± 3.7 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ส่วนสารสกัดจากเปลือก

ส้มเขียวหวานนั้นแสดงแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและอะซิโตรโนไทรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและอะซิโตรโนไทรท์ กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมทานอลและเอธิลอะซิเตต และกลุ่มที่ 4 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและอะซิโตรโนไทรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรโนไทรท์และเมทานอล และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม นอกจากนี้ผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่ทำการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ด ส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันพบว่า ไม่สามารถสร้างความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน แต่มีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่า การที่ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่เด่นชัดอาจเป็นเพราะว่ามีความแตกต่างทางด้านปริมาณ องค์ประกอบ และชนิดของสารประกอบโพลีฟีนอล จึงส่งผลให้มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันออกไป มีรายงานว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีความสามารถในการยับยั้งและทำลายโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Benavente and Garcia , 1995) และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดนั้น จะมีผลต่อกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ได้จากการใช้เมทานอล จะมีองค์ประกอบของฟลาโวนและ ไกลโคไซด์ฟลาโวนเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้เอธิลอะซิเตตจะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล (Bocco *et al.*, 1998) และเปลือกของพืชตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบอื่น ๆ ที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในผล และสารสกัดที่ได้จากเปลือกมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากผลของพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง (Gorinstein *et al.* ,2001) สารประกอบโพลีฟีนอล เช่น นารินจิน นาริงจีน เฮสเปอร์ดินและนีโอเฮสเปอร์ดินซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันพบได้ทั้งในเปลือกและเมล็ดของพืชตระกูลส้ม (*Citrus unshiu*) สารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 70 % แบบไม่ใช้ความร้อนจะพบ 2-ออกซีเบนโซอิก แอซิด (2- oxybenzoia acid)

และ 2,4-บิสไฮดรอกซีเบนซาลดีไฮด์ (2,4- bishydroxybenzaldehyde) หากมีการให้ความร้อนในระหว่างการสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาที จะพบ 2,3 – ไดอะซีติล - 1-ฟีนิลแนปทาไลน์ (2,3 – diacetyl - 1- phenylnapthalene) กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และ *p*-ไฮดรอกซีเบนซาลโดซิม (*p* - hydroxybenzaldoxime) ส่วนสารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นแบบไม่ใช้ความร้อนจะพบ *p* - ซินนามิก แอซิด (*p*- cinnamic acid) และกรดไอโซเฟอร์ูลิก (isoferulic acid) หากมีการให้ความร้อนในระหว่างการสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จะพบ 5-ไฮดรอกซีวาลेरิก แอซิด (5-hydroxyvaleric acid) 2,3-ไดอะซีติล 1-ฟีนิลแนปทาไลน์ (2,3 – diacetyl - 1- phenylnapthalene) กรดวานิลลิก (vanillic acid) และกรดเฟอร์ูลิก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารพฤษเคมีมีอยู่หลากหลายชนิดและอยู่ในรูปของสารประกอบและการใช้ความร้อนในกระบวนการสกัดเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกส้มได้ (Jeong *et al.*, 2004)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน และการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH สามารถทำการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน

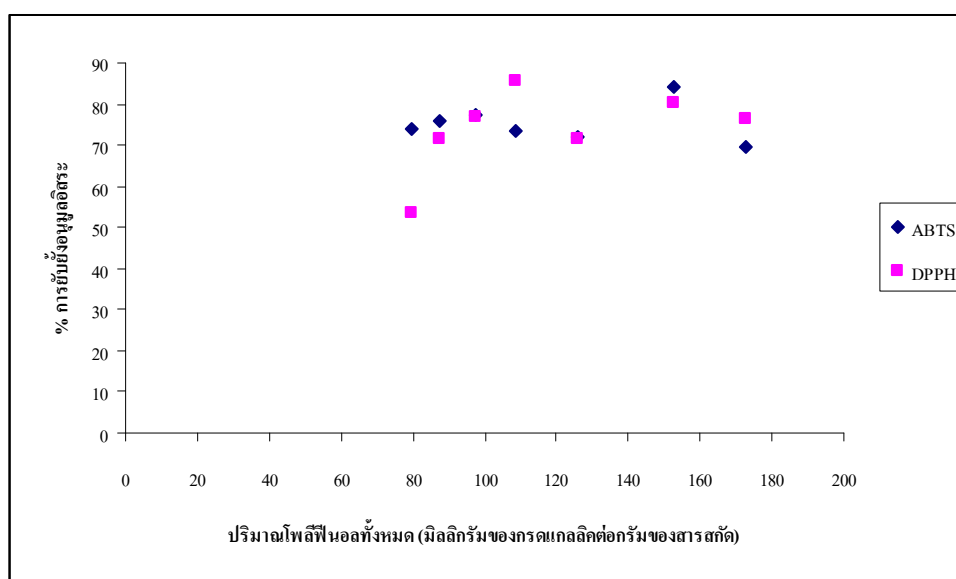
ตัวอย่าง	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัด)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)	
		ABTS ^{•+}	DPPH
โทรอกซ์	-	99.1 ± 0.0	95.8 ± 0.0
วิตามินซี	-	99.2 ± 0.0	95.8 ± 0.0
โพรพิลแกลเลต	-	97.5 ± 0.1	86.3 ± 0.0
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอทานอล	97.5 ± 1.6	77.5 ± 0.4	77.1 ± 2.9
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเมทานอล	87.6 ± 2.5	75.9 ± 0.8	71.6 ± 3.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์	152.5 ± 2.4	84.2 ± 1.2	80.5 ± 1.7
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต	126.1 ± 2.2	71.9 ± 0.6	71.7 ± 2.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซิโตน	172.8 ± 3.4	69.8 ± 1.6	76.5 ± 0.9
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	79.8 ± 1.8	73.8 ± 1.9	53.6 ± 1.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยน้ำกลั่น	108.6 ± 3.1	73.4 ± 1.0	85.5 ± 0.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน

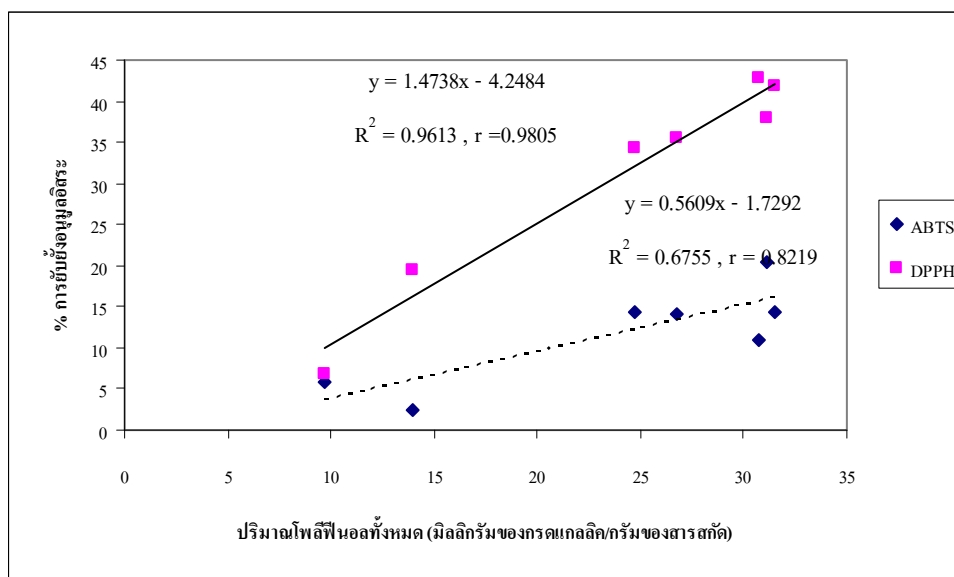
ตัวอย่าง	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัด)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)	
		ABTS ^{•+}	DPPH
โทรอกซ์	-	99.1 ± 0.0	95.8 ± 0.0
วิตามินซี	-	99.2 ± 0.0	95.8 ± 0.0
โพรพิลแกลเลต	-	97.5 ± 0.1	86.3 ± 0.0
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอทานอล	30.7 ± 0.3	10.9 ± 0.1	42.7 ± 0.5
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเมทานอล	24.7 ± 1.1	14.4 ± 0.1	34.4 ± 1.7
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์	31.5 ± 0.9	14.3 ± 0.1	41.9 ± 1.9
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต	14.0 ± 1.1	2.4 ± 0.1	19.4 ± 2.9
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซิโตน	26.8 ± 1.2	14.1 ± 0.2	35.4 ± 1.4
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	9.7 ± 0.2	5.9 ± 0.1	6.9 ± 3.8
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยน้ำกลั่น	31.1 ± 1.4	20.4 ± 0.1	37.9 ± 0.3

จากตารางที่ 4.1 และ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐานซึ่งได้แก่ วิตามินซี โพรพิลแกลเลตและโทรอกซ์ในปริมาณที่เท่ากันคือชั่งอย่างละ 0.1 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย สำหรับวิตามินซีจะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จะเห็นว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทุกชนิดมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่ามาตรฐาน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าสารมาตรฐานอยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์ ส่วนสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานนั้นอยู่ในรูปของสารผสม(crude extract) ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิดทั้งที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและไม่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดต่างกัก็ให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบของสารแตกต่างกันด้วย

เมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่งสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันผลแสดงดังภาพที่ 4.11 และ 4.12



ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

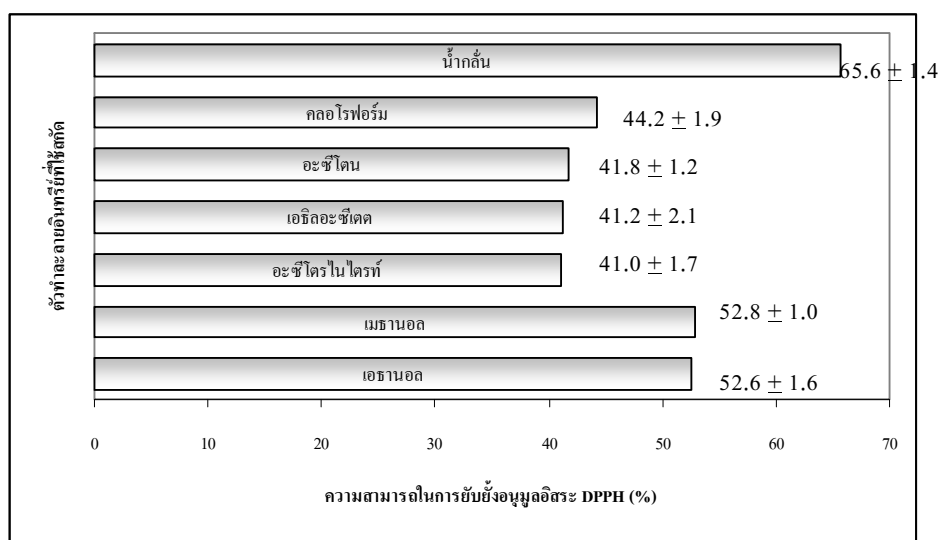


ภาพที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

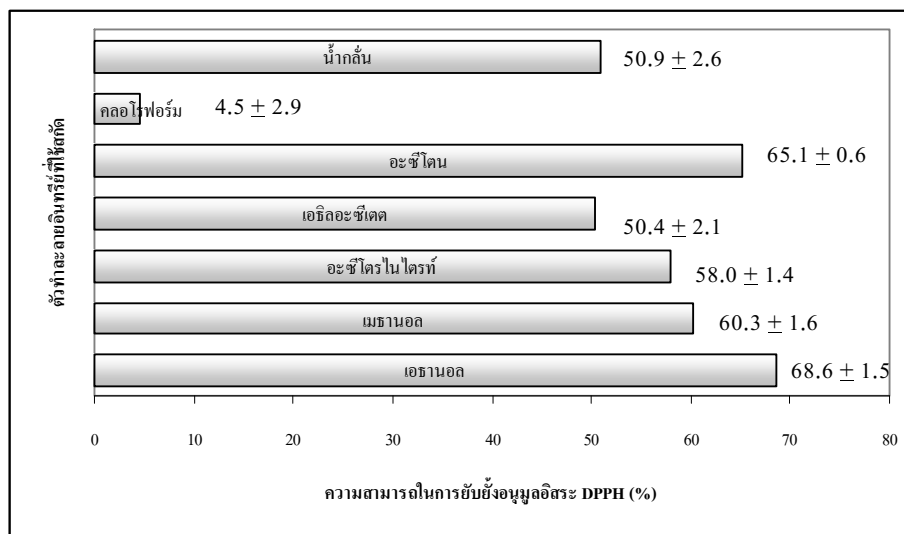
จากภาพที่ 4.11 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่า มีความสัมพันธ์ไม่เด่นชัด และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.12 จะเห็นได้ว่ามีความสัมพันธ์ชัดเจน กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH สูงด้วยโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.82 และ 0.98 ตามลำดับ จากค่า r จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} มีความสัมพันธ์น้อยกว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังนั้นการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อินนูลอิสระ DPPH น่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จึงเลือกใช้การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อินนูลอิสระ DPPH เพื่อนำไปตรวจสอบในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

4.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อกำหนดให้ปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กัน

จากการนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานมาศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นของปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดเท่า ๆ กัน คือในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด เหตุที่ใช้สารสกัดเท่า ๆ กัน ทั้งนี้เนื่องจากการเตรียมสารสกัดให้มีระดับความเข้มข้นที่เท่ากันที่ระดับ 30 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดนั้นเป็นไปได้ยากยิ่ง ดังนั้นจึงกำหนดค่าเป็นช่วงขึ้น และในการทดลองสามารถได้ในช่วง 31 - 38 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้วิธี DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และยังให้ความสัมพันธ์ระหว่างโพลีฟีนอลทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูง นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ผลการทดลองที่ได้ดังภาพที่ 4.13 และ ภาพที่ 4.14



ภาพที่ 4.13 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล



ภาพที่ 4.14 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล

จากภาพที่ 4.13 และ 4.14 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน มีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล เอทานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต อะซีโตรไนไตรท์ และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอล มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตน เมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น เอธิลอะซีเตต และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Bocco และคณะ (1998) ที่ทำการเปรียบเทียบการใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กันโดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล พบว่า สารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกันซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างชนิดกันจะให้สารประกอบโพลีฟีนอลที่ต่างชนิดกันซึ่งชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์

ที่ใช้ในการสกัดนั้น จะมีผลต่อกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอล จะมีองค์ประกอบของฟลาโวนและไกลโคไซด์ เฟลวาโนนเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้เอธิลอะซิเตต จะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล (Bocco และคณะ ,1998) สารประกอบโพลีฟีนอลเป็นสารพฤษเคมี มีอยู่หลากหลายชนิดและอยู่ในรูปของสารประกอบเป็นส่วนใหญ่

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มนั้นมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงอาจบอกได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มนี้มีกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอลและเอทานอล กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม อะซิโตน เอธิลอะซิเตตและอะซิโตรไนไตรท์ ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและอะซิโตน กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอลและอะซิโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอธิลอะซิเตต และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กันและการแบ่งกลุ่มของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้แบ่งไว้ในหัวข้อ 4.4 ว่าไม่สามารถสร้างความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า สารสกัดที่จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารประกอบต่างกลุ่มกันจึงมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน หรืออาจเป็นกลุ่มเดียวกันแต่มีโครงสร้างหรือหมู่ที่มาเกาะในตำแหน่งต่าง ๆ ต่างกันและมีความมีขั้วต่างกันจึงทำให้มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวเป็นแนวทางได้ว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำกลั่นให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณสูง ในขณะที่เดียวกันการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตตให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณต่ำ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สภาวะที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง คือ อบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 15-20 %) ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส

เมื่อใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เท่ากัน แต่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดต่างกัน จะได้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน ในการทดลองนี้ น้ำกลั่นสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้มากที่สุด ในขณะที่คลอโรฟอร์มสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดมีสมบัติเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ต่างกัน และผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะมีแนวโน้มในการสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้ในปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล เมทานอล อะซิโตน อะซิโตรโนไทรท์ คลอโรฟอร์ม และเอธิลอะซิเตต พบว่า เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่างกัน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตนมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ 172.8 ± 3.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรโนไทรท์ เอธิลอะซิเตต น้ำกลั่น เอทานอล เมทานอลและคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณเท่ากับ 152.4 ± 2.4 126.1 ± 2.2 108.5 ± 3.1 97.4 ± 1.7 87.5 ± 2.5 และ 79.8 ± 1.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 33.1 ± 1.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรโนไทรท์ เอทานอล อะซิโตน เมทานอล เอธิลอะซิเตต และคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณ เท่ากับ 31.5 ± 0.9 30.6 ± 0.3 26.8 ± 1.3 24.7 ± 1.1 13.9 ± 1.1 และ 9.7 ± 0.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของ 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthia zolinesulfonate) หรือ ABTS^{•+} พบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล เมธานอล คลอโรฟอร์ม น้ำกลั่น เอธิลอะซีเตต และ อะซีโตน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} เท่ากับ 84.2 ± 1.2 77.5 ± 0.5 75.9 ± 0.8 73.8 ± 1.9 73.4 ± 1.0 71.9 ± 0.6 และ 69.8 ± 1.6 ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ อะซีโตน เอธานอล คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} เท่ากับ 20.4 ± 0.1 14.4 ± 0.1 14.3 ± 0.1 14.1 ± 0.2 10.9 ± 0.1 5.9 ± 0.1 และ 2.4 ± 0.1 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์เอธานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต เมธานอลและคลอโรฟอร์ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 85.5 ± 0.8 80.5 ± 1.7 77.1 ± 2.9 76.5 ± 0.9 71.1 ± 2.3 71.6 ± 3.3 และ 53.6 ± 1.3 ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น อะซีโตน เมธานอล เอธิลอะซีเตตและคลอโรฟอร์ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 42.7 ± 0.5 41.9 ± 1.9 37.9 ± 0.2 35.4 ± 1.4 34.4 ± 1.7 19.4 ± 2.9 และ 6.8 ± 3.7 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ไม่เด่นชัด ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} และ DPPH ในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ที่เด่นชัด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.82 และ 0.98

จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กันคือในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กัน

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวเป็นแนวทางได้ว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำกลั่นให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณสูง ในขณะที่เดียวกันการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น กลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตตให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณต่ำ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาโดยวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ ซึ่งจะทำให้เราทราบว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ จะใช้ความเข้มข้นในระดับใดจึงจะเหมาะสมในการแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในระดับเดียวกันทุกสารสกัดคือ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยอาจความเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นที่ระดับนี้ ไม่เหมาะสมกับสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด นอกจากนี้ควรมีการศึกษาแนวทางในการนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป